

EFEITO TERAPÊUTICO DO TREINAMENTO FÍSICO EM CAMUNDONGOS PORTADORES DE TUMOR *LEWIS LUNG CARCINOMA*

¹Camila Ueda; ²Luana Garcia Leal Bueno; ³Miguel Luiz Batista Júnior.

¹Estudante do curso de Bacharelado em Educação Física na Universidade de Mogi das Cruzes; caueda95@gmail.com

²Doutoranda do curso de Engenharia Biomédica na Universidade de Mogi das Cruzes; lu_garcialeal@hotmail.com

³Professor Doutor da Universidade de Mogi das Cruzes; migueljr4@hotmail.com

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde.

Palavras-Chave: treinamento de natação; treinamento resistido; exercício físico; câncer.

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define câncer como um crescimento descontrolado de células que podem proliferar e invadir outras partes do corpo. Segundo o *American Cancer Society*, os pacientes com câncer podem apresentar alguns sinais e sintomas como febre, fadiga, dor, mudanças na pele e grande redução inexplicável da massa corporal, sendo este último um dos primeiros sinais de câncer. Uma grande quantidade de pacientes oncológicos em fase terminal apresenta uma doença sistêmica denominada de caquexia (Lok, 2015). A caquexia é uma síndrome inflamatória crônica que atinge cerca de 80% dos pacientes com câncer sendo caracterizada pela perda de peso corporal maior que 5%, distúrbios metabólicos, redução da massa muscular e adiposa (Blum *et al.*, 2014). Alguns estudos atuais acreditam que o Tecido Adiposo Branco (TAB) é afetado de maneira precoce pela síndrome (Batista, Neves *et al.* 2012). A atrofia do tecido adiposo é um importante marcador da caquexia e em pacientes com câncer de pulmão, no qual há uma redução de 85% da massa gorda, acarretando muitas vezes em resistência à insulina e hiperlipidemia (Gould *et al.*, 2013). A depleção ou atrofia muscular pode ser observada em várias condições patológicas como Diabetes Mellitus, falência renal e câncer, sendo resultado de um balanço negativo entre a taxa de síntese proteica e degradação proteica (Evans, 2010). Recentes estudos demonstram que ao realizar uma contração muscular há a secreção de citocinas denominadas “miocinas” que podem agir em outros órgãos, como a Irisina, sugerida por possuir a capacidade de induzir o “amarronzamento” (*browning*) do tecido adiposo branco (TAB), fenômeno no qual o TAB obtém características semelhantes ao Tecido Adiposo Marrom (TAM) (Irving *et al.*, 2014). Atualmente, o exercício, principalmente de caráter aeróbio, vem sendo descrito como um dos responsáveis pelo *browning* do TAB e estudos indicam que tal efeito é devido à maior expressão de irisina (Chen *et al.*, 2016). Em pacientes oncológicos, o exercício físico contribui para a melhora em alguns sintomas debilitantes como a fadiga, depressão, ansiedade e caquexia, também sendo descrito por melhorar a aptidão física de pacientes com câncer de pulmão, além de diminuir o risco de mortalidade, aumentar a sobrevivência e inibir a progressão tumoral (Pedersen *et al.*, 2016). Atualmente, os tratamentos para pacientes com câncer são limitados, com isso, o foco atual é propor intervenções menos nocivas aos pacientes, devido a isso, o presente estudo visa avaliar os efeitos terapêuticos do treinamento resistido e de natação na massa corporal, tecido adiposo e muscular de camundongos C57Bl/6 portadores de tumor LLC.

OBJETIVOS

Verificar a efetividade do treinamento físico nos efeitos gerados pelo tumor em camundongos.

METODOLOGIA

Implantente tumoral.: Foram inoculadas células LLC subcutaneamente no flanco direito de cada animal ($3,5 \times 10^5$ em 1 ml de solução salina 0,9%). **Treinamento:** Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais: (1) sedentários sem tumor 1 (SCO1 n=6) – sacrifício no 28º dia; (2) sedentário com tumor 1 (STB1 n=10) – sacrifício no 28º dia; (3) treinado natação com tumor 1 (NTB1 n=12) – sacrifício no 28º dia; (4) treinado força com tumor 1 (FTB1 n=10) – sacrifício no 28º dia; (5) sedentário com tumor 2 (STB2 n=10) – análise de sobrevivência; (6) treinado natação com tumor 2 (TTB2 n=7) – análise de sobrevivência; (7) treinado força com tumor 2 (FTB2 n=7) – análise de sobrevivência. O protocolo de treinamento de natação teve a duração de 6 semanas, sendo 2 semanas de adaptação e 4 semanas de treinamento, sendo no último dia de adaptação a realização da inoculação das células tumorais. Após a adaptação, o treinamento consistiu em 30 minutos diários, 5 vezes por semana com base no modelo de Wasinski *et al.* (2013). O protocolo de treinamento resistido teve a duração de 8 semanas, sendo 1 semana de adaptação e 7 de treinamento. Após a adaptação, os animais realizaram 8 escaladas/treino, consistindo em cerca de 15 movimentos por escalada por sessão de TR com 65% da carga máxima de acordo com modelo de Hornberger and Farrar (2004). **sacrifício dos animais e coleta dos tecidos:** Os animais foram sacrificados por decaptação sem anestesia 48 horas após a última sessão de treinamento. Os tecidos foram retirados e refrigerados para experimentos posteriores. **Análise histológica e histométrica:** Foram utilizados diferentes depósitos do TAB e TAM em cortes de 5µm de espessura e coradas com Hematoxilina e Eosina (H/E) e Picro Sirius, as imagens foram digitalizadas em um aumento de 400x e medidas no programa *ImagePro-Plus 6.0*. **Imunohistoquímica:** Os diferentes depósitos de TAB e TAM foram incubados com anticorpos primários específicos (UCP-1) por uma hora e em seguida aplicado o polímero por 30 minutos. Foi realizada a revelação das lâminas com o cromogênio DAB (Diaminobenzidina). Por fim, foi realizada a desidratação das lâminas e montagem da lâmina com meio sintético Entellan®. **Análise Estatística:** A análise estatística foi feita com o software GraphPad Prism 5. Para os grupos experimentais e controle o teste utilizado foi Anova oneway e twoway para comparação de mais de duas médias, usando o $p < 0,05$ de significância, seguido pelo pós teste Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira pergunta a ser respondida pelo presente estudo refere-se à efetividade do treinamento de natação e resistido frente à sobrevivência dos animais acometidos pela presença do tumor. Ambos os grupos apresentaram um aumento na sobrevivência em relação ao grupo STB2 ($p < 0,02$) como apresentado na Figura 1.

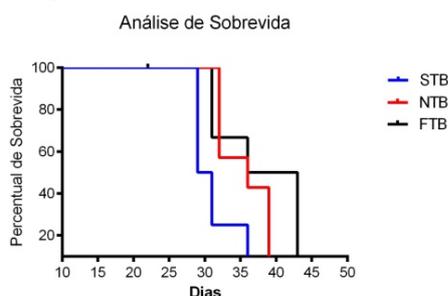


Figura 1. Análise da sobrevivência dos animais dos grupos STB2, NTB2 e FTB2 ($p < 0,02$).

Após comprovar que ambos os treinamentos são eficazes em aumentar a sobrevivência dos animais portadores de tumor, buscamos compreender quais são os impactos dos treinamentos na massa corporal e tumoral dos animais. Os grupos treinados não apresentaram diferenças quando comparados entre si, porém, os animais do grupo FTB2 apresentaram uma massa corporal maior nas primeiras semanas experimentais quando comparadas aos animais do grupo STB2. Contudo, quando se analisa os últimos dias experimentais, não observamos diferenças entre os grupos experimentais como pode ser observado na figura 2A. Devido ao conhecimento dos efeitos benéficos do exercício físico na diminuição do crescimento tumoral (Pedersen *et al.*, 2016), realizamos o acompanhamento diário do crescimento tumoral e a massa tumoral pós-sacrifício. Não observamos nenhuma diferença entre os grupos em nenhuma das análises realizadas como pode ser observado na figura 2B. Apesar de encontrarmos na literatura trabalhos que demonstrem que o treinamento foi eficaz na redução da massa tumoral, podemos observar várias diferenças nos protocolos de treinamento e no modelo animal utilizado, sugerindo que variações no modelo experimental, protocolos de treinamento e as células tumorais utilizadas podem influenciar nos resultados obtidos.

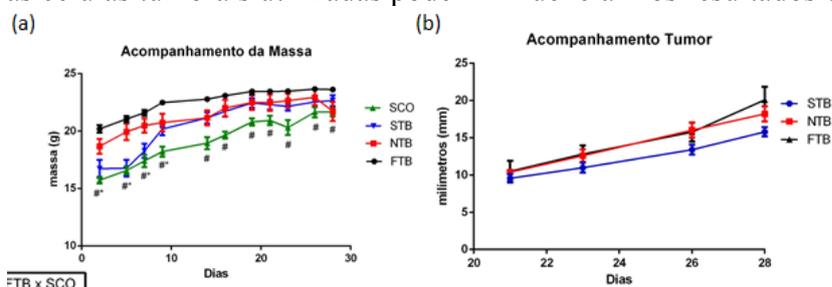


Figura 2. Análise dos efeitos do treinamento na massa corporal e tumoral dos animais. (a) Acompanhamento da massa corporal diária dos animais de todos os grupos; (b) acompanhamento diário da massa tumoral dos animais dos grupos STB, NTB e FTB. # significa ($p < 0,05$) entre os grupos FTB e SCO; * significa ($P < 0,05$) entre os grupos FTB e STB.

Como dito anteriormente, o tecido adiposo e muscular são afetados em pacientes com câncer (Lok, 2015), assim, realizamos a análise da massa dos diferentes estoques do tecido adiposo branco nos animais treinados portadores de tumor pós-sacrifício relativo ao peso corporal. No tecido adiposo subcutâneo, todos os grupos sofreram reduções quando comparados ao controle (Figura 3a). Os animais do grupo NTB apresentou uma redução significativa do tecido adiposo mesentérico quando comparado aos grupos SCO, STB e FTB (Figura 3b). No tecido adiposo axilar, os animais do grupo STB e NTB apresentaram reduções na massa quando comparados ao grupo SCO, e os animais do grupo FTB apresentaram massas maiores deste tecido comparado aos animais do grupo NTB (Figura 3c). O grupo NTB já apresentou uma massa maior do tecido adiposo epididimal em relação aos animais STB (Figura 3d). Este mesmo resultado pode ser observado no tecido adiposo retroperitoneal e marrom. Os animais do grupo STB apresentaram uma massa do tecido adiposo retroperitoneal inferior aos animais do grupo SCO (Figura 3e). E em relação ao tecido adiposo marrom, os animais do grupo NTB apresentaram uma maior massa quando comparados ao grupo FTB (Figura 3f). Analisando os efeitos no músculo esquelético, gastrocnêmio apresentou redução somente nos animais do grupo STB comparado ao grupo SCO, indicando que possivelmente, o exercício físico foi capaz de reverter à atrofia muscular nesta musculatura (Figura 3g). Os animais do grupo FTB apresentaram uma massa do músculo sóleo menores que os animais do grupo NTB (Figura 3h). E a musculatura EDL não sofreu alterações (Figura 3i).

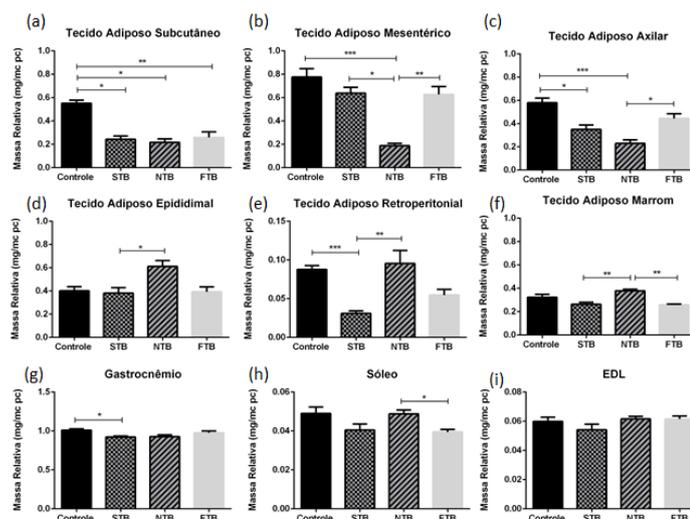


Figura 3. Análise da massa dos diferentes depósitos de tecido adiposo branco, marrom e muscular pós-sacrifício entre todos os grupos experimentais. (a) tecido adiposo branco; (b) tecido adiposo mesentérico; (c) tecido adiposo axilar; (d) tecido adiposo epididimal; (e) tecido adiposo retroperitoneal; (f) tecido adiposo marrom; (g) músculo gastrocnêmio, representante de uma musculatura com fibras mistas; (h) músculo sóleo, representante de uma musculatura com fibras predominantemente vermelhas; (i) músculo EDL, representante de uma musculatura com fibras predominantemente brancas.

CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo demonstram que: O treinamento físico é eficaz em aumentar a sobrevivência dos camundongos portadores de tumor; o treinamento físico se mostrou capaz de preservar determinados depósitos do TAB e marrom; o músculo esquelético foi preservado em ambos os modelos de treinamento físico; o treinamento de natação aumentou a marcação de UCP-1 nos camundongos portadores de tumor e ambos os treinamentos induziram um possível aumento de colágeno no tecido adiposo marrom.

REFERÊNCIAS

- BATISTA, M. L., JR. et al. Heterogeneous time-dependent response of adipose tissue during the development of cancer cachexia. **J Endocrinol**, v. 215, n. 3, p. 363-73, Dec 2012.
- BLUM, D. et al. Validation of the Consensus-Definition for Cancer Cachexia and evaluation of a classification model--a study based on data from an international multicentre project (EPCRC-CSA). **Ann Oncol**, v. 25, n. 8, p. 1635-42, Aug 2014.
- CHEN, N. et al. Irisin, an exercise-induced myokine as a metabolic regulator: an updated narrative review. **Diabetes Metab Res Rev**, v. 32, n. 1, p. 51-9, Jan 2016.
- EVANS, W. J. Skeletal muscle loss: cachexia, sarcopenia, and inactivity. **Am J Clin Nutr**, v. 91, n. 4, p. 1123S-1127S, Apr 2010.
- GOULD, D. W. et al. Cancer cachexia prevention via physical exercise: molecular mechanisms. **J Cachexia Sarcopenia Muscle**, v. 4, n. 2, p. 111-24, Jun 2013.
- HORNBERGER, T. A., JR.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Can J Appl Physiol**, v. 29, n. 1, p. 16-31, Feb 2004.
- IRVING, B. A.; STILL, C. D.; ARGYROPOULOS, G. Does IRISIN Have a BRITE Future as a Therapeutic Agent in Humans? **Curr Obes Rep**, v. 3, p. 235-41, 2014.
- LOK, C. Cachexia: The last illness. **Nature**, v. 528, n. 7581, p. 182-3, Dec 10 2015.
- PEDERSEN, L. et al. Voluntary Running Suppresses Tumor Growth through Epinephrine- and IL-6-Dependent NK Cell Mobilization and Redistribution. **Cell Metab**, v. 23, n. 3, p. 554-62, Mar 8 2016.
- WASINSKI, F. et al. Exercise and caloric restriction alter the immune system of mice submitted to a high-fat diet. **Mediators Inflamm**, v. 2013, p. 395672, 2013.